＜食品分析＞

食品の分析技術及びその指導方法の研究
―科目「食品化学」の指導法の工夫―

県立南部農林高等学校教諭　宮　城　　宏

Ⅰ　テーマ設定の理由

最近の食生活の傾向は生活水準の向上にともなって，加工技術にすぐれ，付加価値の高い食品の利用が多くなってきた。私たちは健康を維持し，豊かな生活を営むためには，まず健全な身体を作る基になる栄養素を上手に摂取しなければならない。毎日いろいろな食品をそのまま，あるいは調理・加工して食べることによって栄養素補給がなされている。

「食品化学」は食品を構成している化学的成分の構造・性質・変化について研究し，それらの実態を正確につきとめ，食品の性質を理解してより有効に利用する方法を解明しようとする分野である。

また，食品製造でもっとも重要なことは，価値のすぐれた一定の品質を持つ製品を，予定どおり経済的に生産することであるが，それには原材料の良否の判定，製造工程中の処理方法および貯蔵管理の適正などが大切で，これらは食品化学の知識が必要とされる。

ところで，「食品化学」の中で，食品成分の物理・化学分析の単元にあるクロマトグラフィーについては，応用範囲が広く、食品分野でのさまざまな定性，定量分析に活用されている。近年急速に発展している新しい分析技術を習得し，生徒の興味・関心を高めていくよう工夫することは大きな課題であり、研修の必要性を感じていた。

また，本校では実習等で製造された食品の品質は官能検査によって評価されている状況が多い。したがって，最新の分析機器を用いて客観的に評価していく事はこれから一層重要になると考えられる。

「食品化学」を履修している２，３年生に大豆等を利用した加工品，特にみそなどを用いて，分析機器を活用した食品分析法の技術習得と食品成分の定性及び定量法の指導方法を工夫しようと思い，本テーマを設定した。

Ⅱ　研究内容

１　研究項目

(1) 分析機器の活用

(2) 食品分析技術の活用

(3) 大豆加工品の研究

(4) 食品成分の定性及び定量実験

２　みそについて

本校食品技術科では大豆加工品や発酵食品の一つとしてみそを「食品製造」「総合実習」で取り扱っている。みそは，米・大麦または大豆を原料としてこうじをつくり，蒸煮した大豆及び食塩とともに容器に仕込み，発酵・熟成させたものである。みそには必須アミノ酸等が含まれていて，入れる具によって各栄養素を同時に補強する事ができるので，理想的な健康食品の一つと言える。

３　クロマトグラフィーについて

(1) クロマトグラフィー分析法

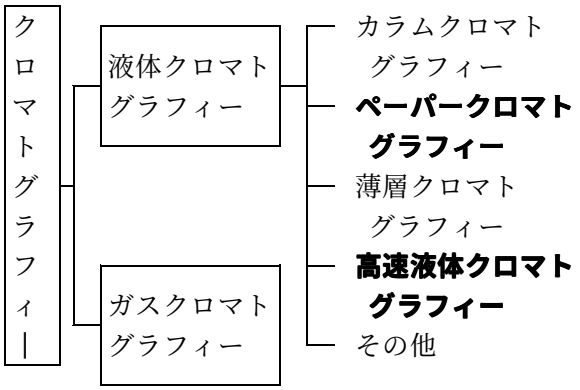
クロマトグラフィーは混合物中の各成分の分離や単離，定性や定量など他用途に活用できる分析方法で，これまでの科学的方法では分離の難しい化学構造のよく似た微量物質の分離にも有効な方法である。

クロマトグラフィーの基本的な部分は，固定相と移動相である。固定相の一端に試料を置き，それを移動相（液体あるいは気体）で流すと，各成分の移動の速さに差が生ずる。これは各成分の固定相に対する親和性（吸着あるいは溶解性）の違いによるもので，このため，各成分は個々の成分に分離されるようになる。

(2) クロマトグラフィーの種類

クロマトグラフィーは移動相の違い（液体か気体か）によって，表１のように液体クロマトグラフィーとガスクロマトグラフィーとに大きく分類される。

表１　クロマトグラフィーの分類



① ペーパークロマトグラフィー

原理・・ペーパークロマトグラフィーに用いる展開溶媒の多くは水を含むが，この水がろ紙に吸着されて固定相となり，ろ紙を毛管現象にしたがって移動する溶媒との間の分配によって試料中の各成分は移動し分離される。その移動率は物質により固有なので，移動率の既知物質と照合したり，同一条件で基準物質も展開して，試料中に含まれている物質の判定およびその含量を測定したりする。

ペーパークロマトグラフィーは，アミノ酸・糖・色素・有機酸など適用範囲が広く，比較的簡単な装置や薬品を使用して行う実験方法である。

この実験方法は「食品化学」や「課題研究」等で基礎・基本になる単元であるので，今回の研修ではアミノ酸標準液の分析，特にみそ中のアミノ酸分析を中心に集中的に実験に取り組んだ。

② 高速液体クロマトグラフィー（HPLC）

原理・・高速液体クロマトグラフィー（High Performance Liquid Chromatography）は，試料液体を移動相である液体と定流量ポンプで送液しながら，高分離能のカラムに通し，迅速に分離し測定する方法である。

今回，本研究室にHPLC（アミノ酸分析用）が導入されたので，その操作法を習得するとともに，大豆加工品の一つで健康食品として注目されている，みそ中のアミノ酸分析を行うことにした。

写真１　高速液体クロマトグラフ

Ⅲ　実験方法

１　ｱﾐﾉ酸分離（二次元ﾍﾟｰﾊﾟｰｸﾛﾏﾄｸﾞﾗﾌｨｰ)実験１

(1) **材料**：ﾊﾞﾘﾝ，ﾋﾄﾞﾛｵｷｼﾌﾟﾛﾘﾝ，ﾌｪﾆﾙｱﾗﾆﾝ，ﾛｲｼﾝ，ﾘｼﾞﾝ，ﾌﾟﾛﾘﾝ（それぞれ１％溶液）

(2) 試薬：0.1%ニンヒドリンブタノール溶液

展開溶媒：Ⅰ．　フェノール：0.1%アンモニア水

Ⅱ．n-ﾌﾞﾀﾉｰﾙ：酢酸：水　(4:1:2)

写真２　アンモニア性フェノール溶媒での展開実験

(3) 実験器具

噴霧器,ゴムふいご,ドライヤー，クリップ,洗濯ばさみ,キャピラリー,ペーパークロマト用ろ紙(Ｎｏ51,40×40ｃｍ）,漬物用瓶（展開容器）２本,ものさし,乾燥器,ドラフトチャンバー

(4) 実験方法

① 正方形ろ紙（22×22㎝）の両端から2.5㎝のところの原点に鉛筆で軽く印（・）をし,キャピラリーで３㎜ぐらいの円になるように混合アミノ酸をつけ,自然乾燥してから一回目をアンモニア性フェノール溶媒で一次元と同様にして展開を行う。

② 展開レベルが16.8㎝に上昇したら,ろ紙を取り出し,乾かす。次に前展開と直角の方向に n-ブタノール・酢酸溶媒で展開させ（18.2㎝）,乾燥後 ニンヒドリンで発色させる。

(5) 実験結果及び考察

一次元での展開時間　５時間55分，室温24℃

二次元での展開時間　４時間20分，室温24℃

表２　アミノ酸 Rf 測定値（実験値）

展開溶媒 / アミノ酸	ｱﾝﾓﾆｱ水：ﾌｪﾉｰﾙ (2:8)	n-ﾌﾞﾀﾉｰﾙ:：氷酢酸:：水 (4:1:2)
1　ﾌｪﾆﾙｱﾗﾆﾝ	0.92	0.52
2　ロイシン	0.83	0.66
3　バリン	0.73	0.55
4　ﾋﾄﾞﾛｵｷｼﾌﾟﾛﾘﾝ	0.64	0.36
5　リジン	0.48	0.22

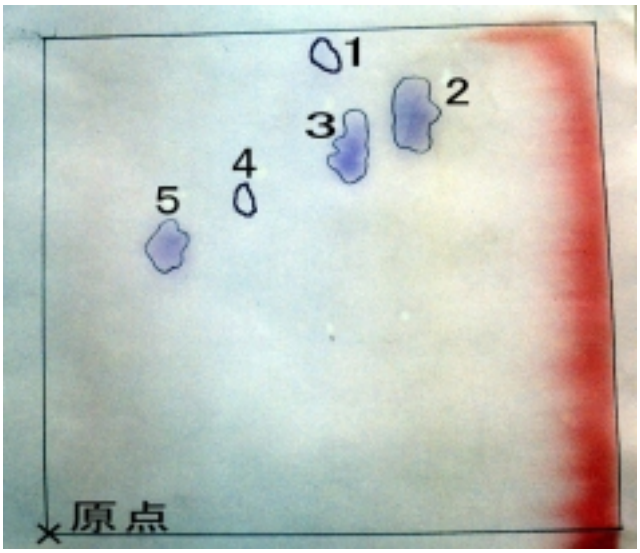


写真３　標準アミノ酸のクロマトグラム

前記の展開時間をかけて実験を行った結果，写真３のように分離状態が良く,表３の Rf 値(参考値)から５種類を判定した。
プロリンは完全には分離できなかったが，２番のロイシンと重なり合っていると考えられる。

表３　アミノ酸の Rf 値（参考値）

展開溶媒 / アミノ酸	フェノール（水飽和）	n-ﾌﾞﾀﾉｰﾙ:氷酢酸:水 (4:1:2)
バリン	0.74	0.53
ロイシン	0.86	0.73
イソロイシン	0.87	0.70
フェニルアラニン	0.90	0.65
プロリン	0.89	0.42
ﾋﾄﾞﾛｵｷｼﾌﾟﾛﾘﾝ	0.66	0.30
リジン	0.43	0.12
アルギニン	0.48	0.14

２　アミノ酸の分離
（二次元ペーパークロマトグラフィー）実験２

(1) 材料

アミノ酸標準液H型（18種類のｱﾐﾉ酸含む）

(2) 試薬

0.1%ニンヒドリン・ｎ－ブタノール溶液
展開溶媒：Ⅰ.フェノール：0.1%アンモニア水
（８　：　２）
Ⅱ. ｎ－ブタノール：酢酸：水
（４　：　１　：　２）

(3) 実験器具

Ⅲ**実験方法-１-(3)**に準ずる。

(4) 実験方法

① 正方形ろ紙（22×22㎝）の両端から2.5㎝のところの原点に鉛筆で軽く印（・）を書き,マイクロピペッターで１μｘの標準アミノ酸液をつけ,自然乾燥後，第一回をアンモニア性フェノール溶媒で一次元と同様にして展開を行う。

② 展開レベルが18.5㎝に上昇したら,ろ紙を取り出し,乾かす。次に前展開と直角の方向に酢酸ブタノール溶液で展開させ（21.0㎝）,乾燥後 ニンヒドリンで発色させる。

表４　アミノ酸の Rf 測定実験値

番号	ｱﾐﾉ酸 / 展開溶媒	ｱﾝﾓﾆｱ水：ﾌｪﾉｰﾙ（２：８）	n-ﾌﾞﾀﾉｰﾙ：氷酢酸：水（４：１：２）
1	ロイシン	0.76	0.66
2	メチオニン	0.74	0.56
3	プロリン	0.76	0.43
4	チロシン	0.68	0.25
5	バリン	0.63	0.51
6	アラニン	0.57	0.39
7	ヒスチジン	0.51	0.20
8	セリン	0.49	0.38
9	スレオニン	0.43	0.35
10	グリシン	0.36	0.32
11	アルギニン	0.28	0.18
12	ｸﾞﾙﾀﾐﾝ酸	0.29	0.38
13	ｱｽﾊﾟﾗｷﾞﾝ酸	0.24	0.31

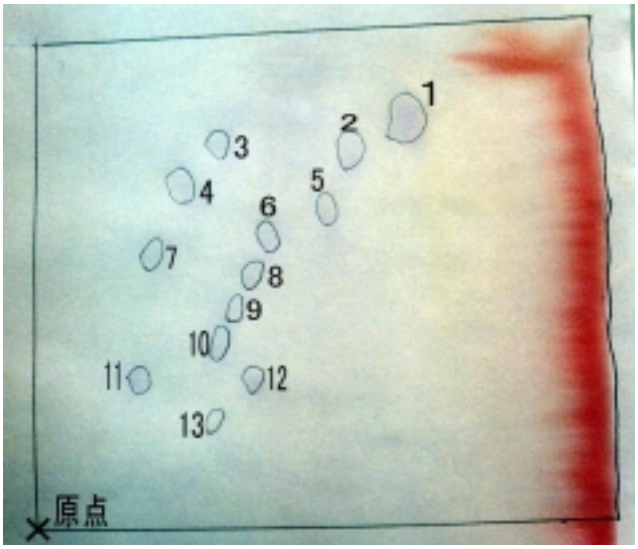


写真４　標準アミノ酸のクロマトグラム

(5) 実験結果及び考察

一次元での展開時間　７時間00分

二次元での展開時間　４時間35分，室温24℃

① 写真４のように展開・分離状態が良く,13種類のスポットが確認できたので，定法により Rf 値を求め，表４のようにアミノ酸の種類を判定した。

② Rf 測定実験値と文献値を比較する時，Excel97 の IF（）関数の式を設定して行った。

IF()関数式設定例は以下のとおりである。

IF（AND(AND(B3＞＝数字，B3＜＝数字)，AND（C3＞＝数字，C3＜＝数字,))，”◎ ”，”　”）

３　標準アミノ酸及びみそに含まれるアミノ酸分離（一次元ペーパークロマトグラフィー）実験

(1) 材料

アミノ酸12種類（味の素標準ｱﾐﾉ酸試薬ｾｯﾄ），学校生産物－赤みそ(1.5%みそ汁)

写真５　アミノ酸試料液の一部

① みそ試料の調製

赤みそ1.5ｇを蒸留水100ｍｘに溶かし，煮沸してから10分後にろ紙でろ過して使用した。

② 標準アミノ酸液の作り方（１%アミノ酸溶液）

各アミノ酸液を10mg ずつとり，それぞれのマイクロチューブに入れ，蒸留水１ｍｘ（ﾏｲｸﾛﾋﾟﾍﾟｯﾀｰを使用）を加え，混合ミキサーで攪拌する。

(2) 試薬

0.1%ニンヒドリン n －ブタノール溶液

展開溶媒,n －ブタノール：酢酸：水(4 : 1 : 2)

(3) 実験器具

分液ロート，メスシリンダー，三角フラスコ，噴霧器，ゴムふいご，ドライヤー，クリップ，洗濯ばさみ，乾燥器，マイクロピペッター，ペーパークロマト用ろ紙，展開容器，ものさし

(4) 実験方法

①容器とろ紙を用意する。ろ紙の大きさは22×31ｃｍにし，容器の壁に触れないようにする。

② スポットの方法はろ紙の下端から2.5cm の所に鉛筆で点をとり，点と点の間隔は２ cm とする方法をとった。なお，滴下量は１μｘとした。

③ ろ紙を展開溶媒につけ，展開溶媒がろ紙上20 cm に達したとき展開をやめ，目印線（溶媒上昇の先端）を書き，ドライヤーで乾燥し溶媒を除く。

④ その後，0.1%ニンヒドリン n －ブタノール溶液を一様に噴霧し，100℃の乾燥器の中で５分間乾燥すると，赤紫色のはん点が表れる。

⑤ 発色したはん点の形を鉛筆でなぞる。各々長さを測定後，各スポットの移動率 Rf 値を求めた。

表５　アミノ酸の Rf 値

展開溶媒 / アミノ酸	n-ブタノール：氷酢酸：水（４：１：２）実験値	n-ブタノール：氷酢酸：水（４：１：２）参考値
イソロイシン	0.65	0.70
スレオニン	0.30	0.35
ヒスチジン	0.23	0.25
ﾄﾘﾌﾟﾄﾌｧﾝ	0.54	－
メチオニン	0.53	0.56
アラニン	0.37	0.39
シスチン	0.14	0.11
ｱｽﾊﾟﾗｷﾞﾝ酸	0.31	0.26
グルタミン酸	0.35	0.32
バリン	0.56	0.53
リジン	0.22	0.12
ロイシン	0.67	0.73
1.5%みそ汁	分離不可	

(5) 実験結果及び考察

① 実験で得られた Rf 値を文献値と比較すると，各々の数値の差が±0.06（リジンを除く）の範囲内であった。（表５参照）

② 煮沸した1.5%みそ汁からは赤紫色のはん点は不鮮明であった。

４　酸を用いたみそ中のアミノ酸抽出実験

みそを酸で加熱分解した後，エボバレータで減圧蒸留し，アミノ酸を抽出する。

(1) 材料

赤みそ（学校生産物）

(2) 試薬

濃塩酸(12N)

(3) 実験器具・機器

三角フラスコ，ガラス管，ゴム栓，ケルダール，分解台，ロート，ろ紙，ロート台，ドラフトチャン

バー，エバポレータ

(4) 実験方法

① １mのガラス管（ゴム栓で固定）を付けた三角フラスコにみそ２ｇと濃塩酸20ｖを加え，穏やかに10時間位加熱した後ろ過する。

② フラスコ内についている固形物は水で洗い流す。

③ ②でとれた液を0.8μmディスミックメッシュでろ過する。

④ ③液をエバポレータの試料フラスコに入れ，３時間ほど減圧・蒸留する。

⑤ 試料フラスコの栓を開き，塩酸臭があれば再度フラスコ内を水洗いし，しばらく蒸留した後臭いがないのを確認して濃縮の終了とする。

(5) 実験結果及び考察

茶褐色状の液を抽出し，抽出量は58ｖであった。

５　みそに含まれるアミノ酸の分離実験

（一次元ペーパークロマトグラフィー）

ニンヒドリン反応を利用して酸で分解したみそ中のアミノ酸の分離を行う。

(1) 試料

酸分解したみそ溶液

(2) 試薬

0.1%ニンヒドリンブタノール溶液，展開溶媒（nーブタノール：酢酸：水の4:1:2の混合液）

(3) 実験器具

噴霧器，ゴムふいご，ドライヤー，クリップ，洗濯ばさみ，マイクロピペッター，クロマトグラフ用紙，台付きガラス管（切込入ゴム栓付）３本，ものさし，電気乾燥器，ドラフトチャンバー

(4) 実験方法

① ろ紙の下から2.5ｃｍの位置に鉛筆で（原線）線を書き，その中央にみそ溶液をマイクロピペットを用いて１μｘ滴下し，自然乾燥させる。

② ろ紙の上端を切込入ゴム栓にはさむ。

③ ガラス管の中に展開溶媒を約５ｍｘ入れる。静かにろ紙をガラス管に入れ，密栓し，アミノ酸を展開させる。

溶液濃度の違いによる展開の比較の為，３区に分けて行う。

Ａ区　原液
Ｂ区　５倍希釈液
Ｃ区　10倍希釈液

④ 展開溶媒がろ紙上20.1ｃｍに達したとき展開を止め，目印の線（溶媒上昇の先端）を書き，乾燥して溶媒を除く。

⑤ 乾燥したら0.1%ニンヒドリンブタノール溶液を一様に噴霧した後，100℃の乾燥器で５分間乾燥すると赤紫色のはん点が表れる。

⑥ 発色したスポットの形を鉛筆でなぞる。式により各スポットの移動率 Rf 値を求め，すでに求めてあるアミノ酸標準液の Rf 値と比べ，スポットが何のアミノ酸であるか判定する。

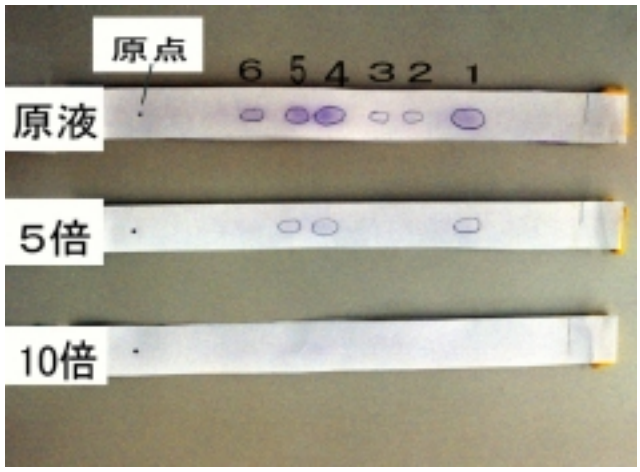


写真６　みそ中のアミノ酸のクロマトグラム

(5) 実験結果及び考察

① 原液では６種類のアミノ酸を分離できた。Rf 値から１．ロイシン，２．イソロイシ，３．メチオニン，４．アラニン，５．グルタミン酸，６．ヒスチジンであると判定した。

② ５倍希釈液では１．ロイシン，４．アラニン，５，グルタミン酸の３種類を分離できたが，10倍希釈液では分離できなかった。

６　高速液体クロマトグラフ（ＨＰＬＣ）を利用したみそ中に含まれるアミノ酸分析

(1) 試薬

エタノール，次亜塩素酸ナトリウム，アミノ酸分析用移動相キット Na 型，アミノ酸分析用キット OPA 試薬

(2) 実験器具，装置および機器

高速液体クロマトグラフ，遠心分離器，直示天秤，サンプルびん，ビーカー，三角フラスコ

(3) 試料

赤みそ２種類及び白みそ（学校生産物），あわせみそ（市販），アミノ酸混合標準液 H 型

(4) みその前処理操作

① 15ｖ用遠沈管にみそ１ｇを入れ水２ｖを加える。

② 試験管ミキサーで１～２分間攪拌する。

③ ②の液にエタノール９ｖを加える。
④ 遠心分離器で遠心分離（3000rpm，５分間）し，上澄み液を試料とする。
⑤ 試料液は，できるだけ0.45μｍメッシュの水系メンブレンフィルタを通して利用する。

(5) HPLCの立ち上げ操作手順

全電源を入れる。８カ所{PRR-2A（試料ポンプ）を除く}

・装置本体の立ち上げ・

・・・ポンプＡ，Ｂの洗浄・・・

① オートサンプラー（ｵｰﾄｲﾝｼﾞｪｸﾀｰ）用のドレンバルブを開いて管内に気泡が入るのを防ぐため，注射器でビーカー内の蒸留水を約５～６ｖとる。
② ドレンバルブを完全に閉める。
③ ポンプＡ，Ｂのチューブに①でとった蒸留水を２ｖずつ入れる。

・・・反応液流路の洗浄・・・

① A,B のタイゴンチューブをかけて，軽く締め付ける。PRR-2A を動かしながらタイゴンチューブの入り口端をＡ反応用水中から一端少し持ち上げ，再度水の中につけて気泡の流れを注視する。
② 上と同じような方法でＢ反応用水の気泡を上げ，水を流すという方法を A,B 同時に行う。
③ 水の流れが安定してきたら，固定速度調節ねじを閉めてから，左右の抑え金具固定ねじを閉める。

・・・移動相で移動相流路の洗浄・・・

（SCL-10AVP の操作）
① A,B のドレンバルブを開ける。カラムオーブンのドアを開ける。F5（menu）を押す。
② ANALYSIS　FILE １にカーソルを動かし，〔 Enter 〕を押す。
③ ANALYSIS　FILE １の画面がでてくる。移動相ＭＡ，ＭＢ，ＭＣの容器のそれぞれにＭＡ，ＭＢ，ＭＣと書かれたチューブを入れる。T.FLOW を 9.9ｍｌ／ min，B.conc100％に設定する。ドレンバルブが開いていることを確かめる。**〔act〕キー**を押すと**Ｂポンプ**が始動し移動相Ｂ用の流路の洗浄が行われる。
④ ２分後に B.conc の100を０％に設定するとＡポンプが始動し，移動相Ａ液の流路が洗浄される。
⑤ 次に２分後に**〔act〕キー**を押す。**〔F4〕**を押し，ANALYSIS　FILE の OTHER　PARAMETER の画面にし SV を１にして，〔 Enter 〕,〔 act〕キーを押すとＡポンプの前で流路が切り替わり，移動相Ｃ用の流路が洗浄される。
⑥ ２分後に〔 act〕キーを押した後，SV を０にして〔Enter〕，〔F5〕を押して，T.FOW を0.3ｍｌにし〔Enter〕押す。
⑦ A,B のドレンバルブを閉める。カラムオーブンのドアを閉める。 〔 act〕キーを押す。

・・・反応液の送液・・・

① 反応液 AA-RA に次亜塩素酸ﾅﾄﾘｳﾑを50μｘ加え，よく混合する。
②ＲＡ，ＲＢ用のタイゴンチューブの先をＲＡ，ＲＢの容器に入れる。

・・・分析開始・・・

① 検出器の設定
② 分析ﾊﾟﾗﾒｰﾀの設定

Na 型条件（高速分離条件）TIMEPROGRAMFILE 1

#	TIME	FUNK	VALUE
0	9.00	B.CONC	0.0
1	13.00	B.CONC	7.0
2	17.20	B.CONC	8.0
3	17.21	B.CONC	11.0
4	20.80	B.CONC	11.0
5	20.81	B.CONC	50.0
6	22.00	B.CONC	58.0
7	22.01	B.CONC	100.0
8	28.80	SV	1.0
9	29.30	B.CONC	100.0
10	29.31	B.CONC	0.0
11	33.00	SV	0.0
12	35.00	T.FLOW	0.60
13	36.50	T.FLOW	0.70
14	43.30	T.FLOW	0.70
15	44.00	T.FLOW	0.60
16	45.00	STOP	

図１　タイムプログラム

READY の表示が出た後，T.FLOW を次の分析流量に変更する。最初は T.FLOW0.3 ｖに設定し，カラムオーブン温度が 60 ℃になったら 0.6 ｖにする。

・・・サンプルの用意・・・

① アミノ酸標準液は MA 液で 25 倍希釈し，試料も下表のように 25 倍希釈して使用する。

標準液	40μｌ	試料液	40μｌ
ＭＡ液	960μｌ	ＭＡ液	960μｌ
Total	1000μｌ	Total	1000μｌ

・・・サンプルの準備・・・

① 標準試料，実試料をオートサンプラーに入れる。
② 〔Ｆ５〕を押し，分析シーケンス画面に戻す。０番に標準試料，１番以降に実試料を設置する。

・・・分析スタート・・・

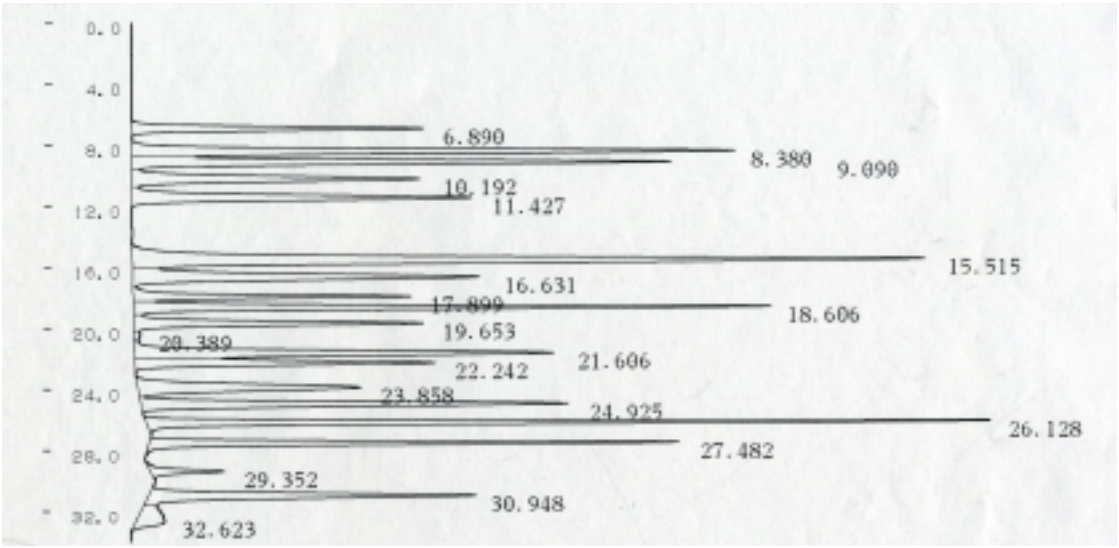
① 分析スタートの前にクロマトパック（C-R7A）Plus の準備を行い，それの〔Win1〕キーを押す。データ処理の流れは別紙参照。分析が一度スタートしたら機器を止めない。
② 分析画面にして〔RUN〕キーを押し，分析を開始する。一つの分析が完了するのに４５分かかる。

・・・装置の終了・・・

① カラムオーブンを開けて，温度を室温に下げる。〔READY〕の表示が出た後，〔Ｆ５〕を押，ANALYSIS File にし，T.FLOW を 0.6 → 0.3 にする。
② ＲＡ，ＲＢ反応液のチューブ２本共別々の蒸留水をビーカーに入れ替える。
③〔act〕キーを押して止める。一分位して圧力が下がる。Ａ，Ｂバルブを開けてあ，Ａ，Ｂ，Ｃのラインを水洗いする為にＭＡ，ＭＢ，ＭＣのチューブを蒸留水が入ったビーカーに入れる。前項で行った移動相を蒸留水に置き換え洗浄する。
④ ＲＡ，ＲＢの蒸留水をさらに３０分間流した後，試料ポンプのスイッチを切り，その抑えネジをゆるめ，タイゴンチューブを外す。
⑤ 廃液チューブを蒸留水が入ったビーカーの高さの位置に置く。

(6)分析結果

CHROMATIC C-R7A CH=1 REPORT N0=8　クロマト=1:991124.CO1 12:06:46
標準液１　AREA と HEIGHT は省略した。以下同じ。

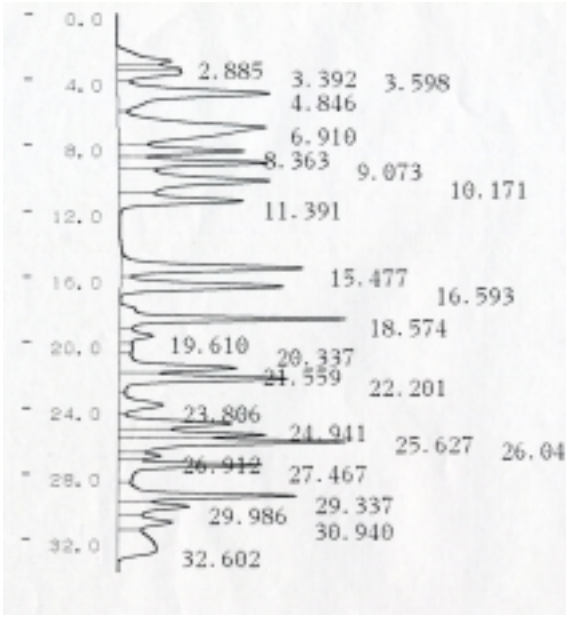


＊＊定量計算結果＊＊

PIKNO	TIME	IDNO	CONC	NAME					
1	6.89	1	1	ASP	11	20.389			
2	8.38	2	1	THR	12	21.606	11	1	ILEU
3	9.09	3	1	SER	13	22.242	12	1	LEU
4	10.192	4	1	GLU	14	23.858	13	1	TYR
5	11.427	5	1	PRO	15	24.925	14	1	PHE
6	15.515	6	1	GLY	16	26.128	15	1	HIS
7	16.631	7	1	ALA	17	27.482	16	1	LYS
8	17.899	8	1	CYS	18	29.352	17	1	AMMONIA
9	18.606	9	1	VAL	19	30.948	18	1	ARG
11	19.653	10	1	MET	20	32.623			
						TOTAL			17（nmol）

図２　標準液のクロマトグラム

CHROMATIC C-R7A CH1 REPORT NO4
クロマト＝1:991124.co2 12:52:42 赤みそ1



＊＊定量計算結果＊＊

IDNO	CONC	NAME
1	1.4451	ASP
2	0.2256	THR
3	0.309	SER
4	0.786	GLU
5	0.3767	PRO
6	0.2132	GLY
7	0.4382	ALA
9	0.3994	VAL
11	0.1621	MET
11	0.3013	ILEU
12	0.5792	LEU
13	0.2174	TYR
14	0.3069	PHE
15	0.3626	HIS
16	0.3504	LYS
17		AMMONIA
18	0.2326	ARG
TOTAL	6.7057	

図３　赤みそ１のクロマトグラム

赤みそ１に含まれるアミノ酸含量をモル濃度から１００ｇあたりに換算すると下表６の通りになった。

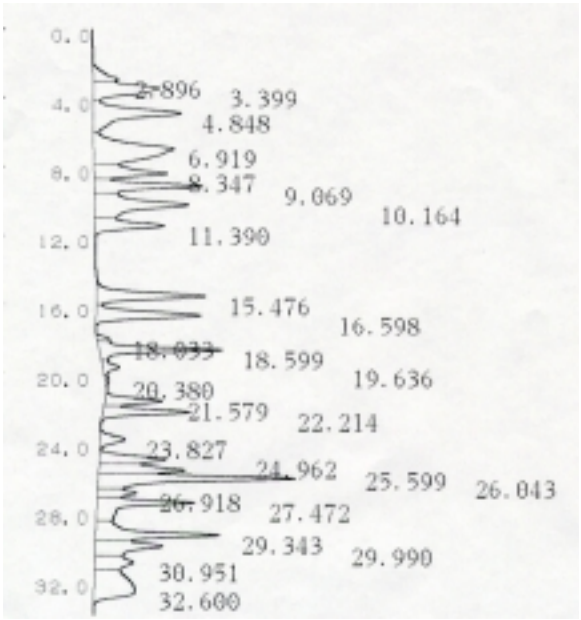
表６　赤みそ１中の各アミノ酸含量（mg/100g）

アスパラギン酸(ASP)	552.9
グルタミン酸（GLU）	332.4
ロイシン（LEU）	218.4
メチオニン（MET）	193.3
リジン(LYS)	192.0
ヒスチジン(HIS)	161.7
フェニルアラニン（PHE）	145.7
バリン（VAL）	134.5
プロリン（PRO）	124.6
アルギニン（ARG）	116.49
イソロイシン（ILEU）	113.6
チロシン（TYR）	113.2
アラニン(ALA)	112.25
セリン（SER）	93.35
スレオニン(THR)	76.12
グリシン（GLY）	46.01

・100ｇ中に含まれるアミノ酸量の換算方法

＜例　イソロイシン＞
イソロイシインの希釈液10μｘに
　3.013×10^{-10}molのイソロイシンが含まれる。
１ｖ(1000μｘ）には
　$3.013\times10^{-10}\times100=3.013\times10^{-8}$mol含まれる。
試料液はＭＡ液で25倍に希釈するので25を乗ずる。
$3.013\times10^{-8}\times25$mol／ｖのサンプルが11.5ｖある。
サンプル全量11.5ｖに含まれるイソロイシンは
　$3.013\times10^{-8}\times25$mol／ｘ×11.5ｖ＝
　　8.662375×10^{-6}mol
つまり　8.662375×10^{-6}mol含まれる。
　このサンプル11.5ｖはみそ1ｇから抽出されているので，みそ1ｇ中に 1.662375×10^{-6}のイソロイシンが含まれていると考えられる。
従って，みそ100ｇ中には$8.662375\times10^{-6}\times100$mol
$=8.662375\times10^{-4}$molのイソロイシンが含まれる。
なお，重量で表すとみそ100ｇ中には
$8.662375\times10^{-4}\times131.18$（ｲｿﾛｲｼﾝの分子量）
$=1.13633\times10^{-1}$ｇ
＝113.633mｇ
よって，イソロイシンは113.633mｇと計算される。

CHROMATOPAC C-R7A REPORT №=5
クロマト=1:991124． CO3 99/11/24 13:38:38
白みそ



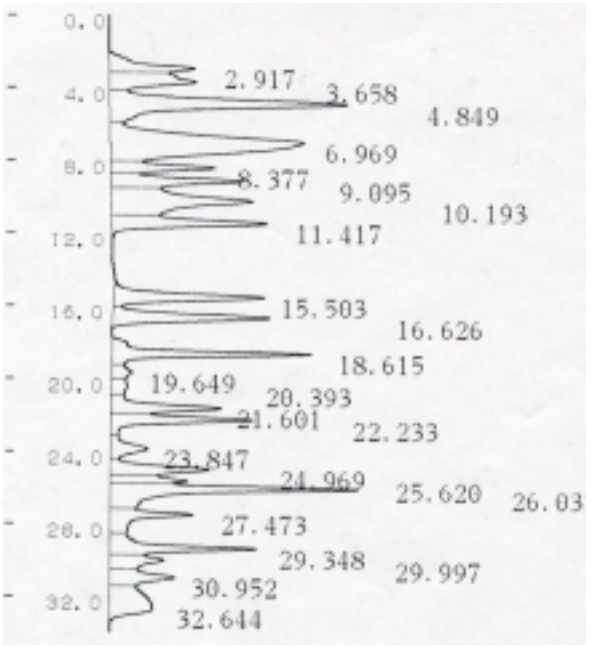
＊＊定量計算結果＊＊

IDNO	CONC	NAME
1	0.7674	ASP
2	0.1499	THR
3	0.2138	SER
4	0.4758	GLU
5	0.2043	PRO
6	0.1224	GLY
7	0.2731	ALA
8	0.0425	CYS
9	0.2052	VAL
11	0.0683	MET
11	0.1166	ILEU
12	0.2641	LEU
13	0.0986	TYR
14	0.1688	PHE
15	0.3095	HIS
16	0.2781	LYS
17		AMMONIA
17		AMMONIA
18	0.1758	ARG

TOTAL 3.9342

図３　白みそのクロマトグラム

CHROMATOPAC C-R7A REPORT №=7
クロマト=1:991124．CO5 99/11/24 15:10:28
赤みそ２



＊＊定量計算結果＊＊

IDNO	CONC	NAME
1	1.9305	ASP
2	0.1666	THR
3	0.2704	SER
4	0.8167	GLU
5	0.4364	PRO
6	0.1618	GLY
7	0.3888	ALA
8		
9	0.3317	VAL
10	0.1062	MET
11	0.2537	ILEU
12	0.4569	LEU
13	0.1721	TYR
14	0.2523	PHE
15	0.4101	HIS
16	0.2413	LYS
17		AMMONIA
17		AMMONIA
18	0.2534	ARG

TOTAL 6.649

図４　赤みそ２のクロマトグラム

表７　みその種類別によるアミノ酸組成

アミノ酸	白みそ	赤みそ２	あわせみそ
ASP	292.42	735.10	322.10
GLU	201.22	345.38	303.64
LYS	152.77	132.22	260.99
HIS	138.02	182.88	181.86
LEU	99.58	172.28	231.71
ARG	88.04	126.91	279.21
MET	81.9	127.38	183.59
PHE	80.14	119.78	151.82
TYR	78.05	89.61	155.01
ALA	69.96	99.60	107.87
VAL	69.1	117.70	126.28
PRO	67.58	144.35	135.09
SER	64.59	81.69	101.75
THR	50.58	56.21	100.45
ILEU	43.96	95.65	124.95
GLY	26.41	34.92	44.43
CYS	14.8	―	16.01

※　あわせみそのクロマトグラムは省略

(7) 分析結果の考察

① 各みそ（表６の赤みそ１を含む）４種とも，ASP,GLU が多く含まれていた。赤みそ２には ASP が735.10mg，他のみそに比べ一番多く含まれていた。

② 白みその ASP は292.42mg で他の三種より少なく，他のアミノ酸量も少なかった。

③ 各みそには必須アミノ酸７種が含まれていて栄養的にも優れた食品であることが分かった（トリプトファンは標準液に入ってなく測定不可能）。

④ CYS は赤みそ１，赤みそ２には含まれず，含んでいるみそでも少なかった。

Ⅳ　まとめと今後の課題

１　まとめ

本研修では食品の分析技術及びその指導方法と科目「食品化学」の指導技術の習得であった。HPLC は初めて接する機器であったが，その操作法と試料の前処理法を習得していくと正確に分析を行う事ができる。研修でいろいろな情報機器に接する事ができた。その操作法に時間がかかったが，よい経験になり，有意義であった。本研修では機器分析の基礎・基本の知識・技術を習得しそれらの理論を理解した後，それを応用しての高速液クロの操作法を習得し大豆加工品（みそ）のアミノ酸分析を行った。

(1) ペーパークロマトグラフィーについて

① ７月頃から予備実験としてペーパークロマトグラフィーによる分離実験や展開溶媒の割合を変更しての展開実験を行った。ペーパークロマトグラフィーにおける試料のスポットの直径は3～5mm，スポット量ではマイクロピペットを使用する時は１μｗが適当であった。

② ペーパークロマトグラフィーについての実験に取り組み，多くの指導教材を作成したので，今後の学習指導に取り組んでいきたい。

(2)HPLCについて

① ９月から12月に HPLC の操作講習を受け，操作法と試料の前処理を習得し，数種類のみそ中のアミノ酸の分析を行った。

② アミノ酸標準液はその都度調製し，キャリブレーションをかける必要がある。また，移動相キットや分析キットは使用期限があるので，集中して分析する必要がある。

２　今後の課題

実験に多くの時間が費やされ，検証授業ができなかった。この点に関しては是非，授業実践の中で深めていきたい。また，今回測定できなかったみそ等に含まれる糖，有機酸及び色素等の分析も行っていきたい。さらに，おからや山芋加工品の研究・開発にも取り組んでみたい。

これからも，前向きに自己研鑽し資質の向上に邁進していきたい。

＜主な参考文献＞

文部省	『食品化学』	東京電機大学	1998
西山隆造	『図解　基礎の化学実験法』	株式会社オーム社	1990
島津製作所	『アミノ酸分析システム取扱説明書』	株式会社島津製作所	1997

あわせみそ
322.10
303.64
260.99
181.86
231.71
279.21
183.59
151.82
155.01
107.87
126.28
135.09
101.75
100.45
124.95
44.43
16.01